

## PCT COOPERATION TREATY

PCT

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner  
 US Department of Commerce  
 United States Patent and Trademark  
 Office, PCT  
 2011 South Clark Place Room  
 CP2/5C24  
 Arlington, VA 22202  
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE  
 in its capacity as elected Office

<b>Date of mailing (day/month/year)</b> 10 September 2001 (10.09.01)	
<b>International application No.</b> PCT/DE00/03758	<b>Applicant's or agent's file reference</b> R. 37488-1 St/Kat
<b>International filing date (day/month/year)</b> 25 October 2000 (25.10.00)	<b>Priority date (day/month/year)</b> 22 November 1999 (22.11.99)
<b>Applicant</b> HANS, Martin et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

19 June 2001 (19.06.01)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:2. The election ☒ was☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

<b>The International Bureau of WIPO</b> 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	<b>Authorized officer</b>  R. Forax Telephone No.: (41-22) 338.83.38
--	---

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

09/856835

**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT  
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS**

# PCT

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>H 4148 PCT</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b>	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/EP 00/ 03758</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>26/04/2000</b>	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>05/05/1999</b>
Anmelder  <b>HENKEL KOMMANDITGESELLSCHAFT AUF AKTIEN</b>		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 5 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

**1. Grundlage des Berichts**

a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in Schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☒ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

**4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung**

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

**5. Hinsichtlich der Zusammenfassung**

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. \_\_\_\_\_

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

☐ keine der Abb.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.2

Ansprüche Nr.: 1-8 (in part)

Die Recherche ergab in ihrer Anfangsphase eine sehr große Zahl neuheitsschädlicher Dokumente. Diese Zahl ist so groß, daß sich unmöglich feststellen lässt, für was in der Gesamtheit der Patentansprüche eventuell nach zu Recht Schutz begehrt werden könnte (Art. 6 PCT).

Aus diesen Gründen erscheint die Durchführung einer sinnvollen Recherche und/oder die Erstellung eines vollständigen Recherchenberichtes bezüglich des gesamten Umfangs der oben genannten Patentansprüche unmöglich. Daher kann die durchgeführte Recherche und der Recherchenbericht nur als vollständig gelten für die Produkte, wie sie in der Beschreibung auf Seiten 10-13 erwähnt werden.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche, oder Teile von Patentansprüchen, auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentansprüche vorlegt.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**

IPK 7 C07H15/04 C12P19/02 A61K7/00 A61K31/7034

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

**B. RECHERCHIERTE GEBIETE**

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07H C12P A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

**C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN**

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	S. RIVA ET AL.: "Protease-catalyzed regioselective esterification of sugars and related compounds in anhydrous dimethylformamide" J. AM. CHEM. SOC., Bd. 110, 1988, Seiten 584-589, XP002144262 Seite 586, Verbindung 6 ---	1-8
X	PEARL, IRWIN A. ET AL: "The barks of the family Salicaceae. XV. The leaves of the family Salicaceae. 10. Mass spectrometry as an aid for determining structures of natural glucosides" PHYTOCHEMISTRY (1968), 7(5), 831-7, XP000925608 Seite 832 --- -/--	1-5

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- \*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- \*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- \*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- \*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- \*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*Z\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

4. August 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

28/08/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

de Nooy, A

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>ESTES, TIMOTHY K. ET AL: "Barks of the family Salicaceae. XIII. Hot-water extractives of the gree bark of Populus trichocarpa"</p> <p>TAPPI (1967), 50(7), 318-24 ,</p> <p>XP000929293</p> <p>Struktur Seite 319</p> <p>---</p>	1-5
X	<p>CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 127, no. 11, 15. September 1997 (1997-09-15)</p> <p>Columbus, Ohio, US;</p> <p>abstract no. 147088,</p> <p>ITOH, ATSUKO ET AL: "Two new phenolic glycosides from Alangium chinense"</p> <p>XP002144263</p> <p>Zusammenfassung</p> <p>6'-O-trans-caffeoylsalicin</p> <p>&amp; NAT. MED. (TOKYO) (1997), 51(2), 173-175</p> <p>,</p> <p>---</p>	1-5
X	<p>OTTO R T ET AL: "Lipase-catalyzed synthesis of arylaliphatic esters of beta-d(+)-glucose, n-alkyl- and arylglucosides and characterization of their surfactant properties"</p> <p>JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY,NL,ELSEVIER</p> <p>SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM,</p> <p>Bd. 64, Nr. 2-3,</p> <p>8. Oktober 1998 (1998-10-08), Seiten 231-237, XP004144022</p> <p>ISSN: 0168-1656</p> <p>in der Anmeldung erwähnt</p> <p>Seite 234, Verbindung 19</p> <p>Seite 231, linke Spalte</p> <p>---</p>	1-11
A	<p>DE 34 09 275 A (KRIWET MANFRED)</p> <p>26. September 1985 (1985-09-26)</p> <p>Spalte 15 -Spalte 16</p> <p>---</p>	9,10
A	<p>US 5 876 737 A (STECKEL FRIEDHELM ET AL)</p> <p>2. März 1999 (1999-03-02)</p> <p>Seite 11, Beispiel 1</p> <p>---</p>	9,11
P,X	<p>R. T. OTTO ET AL.: "Substrate specificity of lipase B from Candida antartica in the synthesis of arylaliphatic glycolipids"</p> <p>JOURNAL OF MOLECULAR CATALYSIS B: ENZYMATIC,</p> <p>Bd. 8, 2000, Seiten 201-211, XP000929711</p> <p>Zusammenfassung</p> <p>Seite 204-205, Verbindungen 20-25</p> <p>-----</p>	1-11

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No  
PCT/EP 00/03758

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 3409275 A	26-09-1985	WO 8504102 A EP 0175722 A JP 61501450 T	26-09-1985 02-04-1986 17-07-1986
US 5876737 A	02-03-1999	DE 19615577 A EP 0801946 A JP 10036238 A	23-10-1997 22-10-1997 10-02-1998

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**PCT**WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<b>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>7</sup> :</b> C07H 15/04, C12P 19/02, A61K 7/00, 31/7034		<b>A1</b>	<b>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer:</b> WO 00/68239
			<b>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:</b> 16. November 2000 (16.11.00)
<b>(21) Internationales Aktenzeichen:</b> PCT/EP00/03758		<b>(81) Bestimmungsstaaten:</b> JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).	
<b>(22) Internationales Anmeldedatum:</b> 26. April 2000 (26.04.00)			
<b>(30) Prioritätsdaten:</b> 199 20 558.2      5. Mai 1999 (05.05.99)      DE 199 24 688.2      28. Mai 1999 (28.05.99)      DE		<b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>	
<b>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):</b> HENKEL KOMMANDITGESELLSCHAFT AUF AKTIEN [DE/DE]; Henkelstrasse 67, D-40589 Düsseldorf (DE).			
<b>(72) Erfinder; und</b> <b>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US):</b> OTTO, Ralf [DE/DE]; Oed- heimer Strasse 6, D-74177 Bad Friedrichshall (DE). WEISS, Albrecht [DE/DE]; Forellenweg 37, D-40764 Langenfeld (DE).			
<b>(54) Title:</b> NOVEL SALICYL ALCOHOL DERIVATIVES			
<b>(54) Bezeichnung:</b> NEUE SALICYLALKOHOL-DERIVATE			
<b>(57) Abstract</b>  The present invention relates to novel salicyl alcohol derivatives which are provided with valuable biological activities. The invention also relates to a method for producing the same and the utilisation in cosmetics and pharmacy.			
<b>(57) Zusammenfassung</b>  Die vorliegende Erfindung betrifft neue Salicylalkohol-Derivate, die wertvolle biologische Aktivitäten aufweisen, Verfahren zu ihrer Herstellung sowie ihre Verwendung in Kosmetik and Pharmazie.			

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kingisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

### Neue Salicylalkohol-Derivate

Die vorliegende Erfindung betrifft neue Salicylalkohol-Derivate, Verfahren zu ihrer Herstellung und diese Verbindungen enthaltende kosmetische und/oder pharmazeutische Zubereitungen.

Viele natürlich vorkommende Alkyl- und Phenol-Glucoside zeigen antivirale, antimikrobielle und teilweise antiinflammatorische Wirkungen (S. Matsamura, K. Imai, K. Kawada und T. Uchibori, Surface activities, biodegradability, and antimicrobial properties of n-alkyl-glucosides, mannosides and galactosides, J. Am. Oil Chem. Soc. 67, 996-1001 (1990); T. Hedner und B. Everts, The early clinical history of salicylates in rheumatology and pain, Clin. Rheumatol. 12, 17-25 (1998)). Vor allem die wäßrigen Extrakte der Weidenrinde (*Salix alba*, *pupurea* oder *fragilis*) und der Pappel sind bekannt für entzündungshemmende Effekte. Daher werden entsprechende Extrakte in Heiltees, aber auch in Kosmetikprodukten, z.B. zur Verringerung von Hautreizungen, eingesetzt, wie in der Anmeldung DE 196 15 577 beschrieben. Als wichtige Inhaltsstoffe der Rinde von Weiden gelten Salicin und Salicylsäure (o-Hydroxybenzoesäure), des weiteren sind Salicortin (2-[[[(1-Hydroxy-6-oxo-2-cyclohexen-1-yl)carbonyl]oxy]methyl]phenyl-β-D-glucopyranosid), Fragilin (Acetylsalicin) und in der Rinde von Pappeln weiterhin Populin (Benzoyl-Salicin) enthalten. Hauptsächlich die Salicylsäure und ihre Derivate wie Acetylsalicylsäure wurden sehr genau auf antiinflammatorische Wirkung hin untersucht: Als nichtsteroidale antiinflammatorische Wirkstoffe (englisch non-steroidal antiinflammatory drugs, NSAID) inhibieren sie die Prostaglandinsynthese (J. R. Vane, Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action of the aspirin-like drugs. Nature, 231, 232-235 (1971)).

Prostaglandine werden als Reaktion auf diverse exogene, zellspezifische Stimuli hin durch von den Enzymen Prostaglandin-Synthase-1 und -2 (PGHS-1 und -2) katalysierte Dioxygenierung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren, insbesondere Ara-

- 2 -

chidonsäure, gebildet. Als autokrine und parakrine Gewebshormone werden sie verstärkt bei Verletzungen, Hautreizungen, Wundheilungsprozessen und inflammatorischen Reaktionen gebildet.

Normale Epidermis enthält bereits signifikante Mengen von Prostaglandinen, die offensichtlich durch PGHS-1 gebildet werden, da PGHS-2 nicht exprimiert ist. In gereizter Haut bewirken Prostaglandine (vor allem  $\text{PGE}_2$  und  $\text{PGF}_{2\gamma}$  aus den Keratinocyten) als lokale Entzündungsmediatoren sowohl die Dilatation (Erweiterung) als auch eine verstärkte Permeabilität von Blutgefäßen und sind dadurch an der Entstehung der für Entzündungsreaktionen typischen Rötung, Erwärmung und Schwellung der Haut (G. Fürstenberger, Role of eicosanoids in mammalian skin epidermis. Cell. Biol. Rev. 24, 1-90 (1990); G. Fürstenberger, V. Kinzel, M. Schwarz und F. Marks, Partial inversion of the initiation-promotion sequence of multistage tumorigenesis in the skin NMRI mice; Science 230, 76-78 (1985)), aber auch an der Ausbildung einer regenerativen epidermalen Hyperplasie beteiligt. Inhibitoren der Prostaglandin-Synthese können diese unerwünschten Effekte verhindern.

Neben den eingangs erwähnten, in Weiden und Pappeln vorkommenden Salicin-Derivaten ist aus der Literatur die Gewinnung von Benzoyl-Salicin aus Pflanzen (L. van Hoof et al., Plant viral agents, VI. Isolation of antiviral phenolic glucosides from *Populus cultivar Beaupre* by droplet counter-current chromatography, J. Nat. Prod. 52, 875-878 (1989)) sowie die enzymatische Herstellung von Phenylbutyryl-Salicin bekannt (R. T. Otto, U. T. Bornscheuer, C. Syldatk und R. D. Schmid, Lipase-catalyzed synthesis of arylaliphatic esters of D(+)-glucose, alkyl- and aryl-glucosides and characterization of their surfactant properties, J. Biotechnol. 64, 231-237 (1998)).

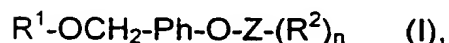
Obwohl in der Literatur bereits zahlreiche pharmakologisch wirksame Stoffe beschrieben sind, die beispielsweise in die Entzündungskaskade eingreifen, besteht weiterhin ein Bedarf nach besser wirksamen, an Nebenwirkungen armen Wirkstoffen. Weiter besteht ein Bedarf an Wirkstoffen mit einer guten Resorbierbarkeit und einer schnellen Penetration in die Haut, die zudem gut in pharmazeutische oder kosmetische Formulierungen einarbeitbar sein müssen.



- 3 -

Überraschenderweise wurde nun gefunden, daß bestimmte Salicylalkoholderivate, die von ihrer chemischen Struktur her als dem Salicin verwandte Verbindungen aufgefaßt werden können, für die Verwendung in Kosmetik und Pharmazie nützliche pharmakologische Wirkungen, wie z. B. antiinflammatorische, antipyretische, anti-phlogistische und/oder analgetische Wirkungen zeigen und die vorher beschriebenen Nachteile des Stands der Technik nicht bzw. nur in geringerem Ausmaß zeigen.

Gegenstand der Erfindung sind Salicylalkoholderivate der allgemeinen Formel (I)



Verfahren zu ihrer Herstellung und diese Verbindungen enthaltende kosmetische oder pharmazeutische Zubereitungen.

Die Verbindungen weisen wertvolle pharmakologische Eigenschaften auf, wie z. B. eine inhibierende Wirkung auf die Prostaglandinsynthese.

In der allgemeinen Formel (I) stehen

$R^1$  für ein Wasserstoffatom oder einen Rest  $C(O)R^3$ ,

wobei  $R^3$  einen Alkyl-, Cycloalkyl-, Cycloalkylalkyl-, Aralkyl-, oder Arylrest mit 1 bis 26 C-Atomen und/oder 1-10 Heteroatomen, der unverzweigt oder verzweigt, einfach oder mehrfach ungesättigt sein und/oder Substituenten am Kohlenstoffgerüst und/oder den Heteroatomen tragen kann, bedeutet,

Ph für den 1,2-Phenylenelement,

Z für einen an den aromatischen Rest Ph in (I) halbacetalisch gebundenen, gegebenenfalls n-fach mit  $R^2$  esterartig substituierten Zucker, wobei der Zucker ein Mono-, Di-, Oligo- oder Polysaccharid sein kann,

- 4 -

n für eine ganze Zahl zwischen 0 und m, wobei m gleich der Anzahl der im halbacetalisch an den aromatischen Rest gebundenen Zucker Z vorhandenen freien Hydroxylgruppen ist,

$R^2$  für ein Wasserstoffatom oder eine Gruppe  $C(O)R^4$ , wobei  $R^4$  aus der gleichen Gruppe ausgewählt ist wie  $R^3$ , und wobei  $R^1$  und  $R^2$  gleich oder verschieden sein können mit der Maßgabe, daß höchstens einer der beiden Reste  $R^1$  oder  $R^2$  Wasserstoff bedeutet, wenn  $Z = \text{Glucose}$  ist,

und mit den Einschränkungen,

daß im Falle, daß  $Z$  Glucose und  $R^2$  Wasserstoff bedeuten, der Rest  $R^1$  weder Acetyl noch Benzoyl noch (1-Hydroxy-6-oxo-2-cyclohexen-1-yl)carbonyl bedeuten kann, und im Falle, daß  $R^1$  Wasserstoff,  $Z$  Glucose und  $n = 1$  bedeuten und der Glucoseres an seiner primären Hydroxygruppe mit  $R^2$  substituiert ist, der Rest  $R^2$  nicht 4-Phenyl-butyryl bedeuten kann.

Vorzugsweise ist für den Fall, daß  $R^1$  Wasserstoff,  $Z$  Glucose und  $n = 1$  bedeuten und der Glucoseres an seiner primären Hydroxygruppe mit  $R^2$  substituiert ist, die dem Rest  $R^2$  korrespondierende Carbonsäure  $R^4\text{COOH}$  keine hydrophobe aromatische Carbonsäure.

Für die bei der Definition der Reste eingangs erwähnten Bedeutungen kommen beispielsweise

für  $R^3$  und  $R^4$  Wasserstoff, die Methyl-, Ethyl-, Propyl-, n-Butyl-, tert-Butyl-, Pentyl-, Hexyl-, Heptyl-, Octyl-, Nonyl-, Decyl-, Undecyl-, Dodecyl-, Tridecyl-, Tetradecyl-, Pentadecyl-, Hexadecyl-, Heptadecyl-, Octadecyl-, Heneicosyl-, Vinyl-, 1-Propenyl-, 2-Propenyl-, 2-Butenyl-, 8-Pentadecenyl-, 8-Heptadecenyl-, Z,Z-8,11-Heptadecadienyl-, Z,Z,Z-8,11,14-Heptadecatrienyl-, 4,7,10,13,16-Nonadecapentaenyl-, 3,6,9,12,15,18-Heneicosahexaenyl-, Phenyl-, Phenylmethyl-, Phenylethyl-, Phenylpropyl-, Phenylbutyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylmethyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylethyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylpropyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylbutyl-, 3,4,5-Trihydroxyphenyl-, 3-Phenylvinyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-3-phenylvinyl-, 3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-vinyl- oder 3-Pyridyl-Gruppe, wobei zusätzliche Substituenten wie z. B. in Halogenatom,

- 5 -

eine Alkyl-, Hydroxy-, Alkoxy-, Phenyl-, Nitro-, Amino-, Acetylamino- oder Carboxy-Gruppe enthalten sein können, und phenolische Hydroxygruppen als Phenolat-Salze mit Alkali- oder Erdalkalimetallen vorliegen können, in Betracht.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind somit Salicylalkoholderivate der allgemeinen Formel (I), in denen mindestens einer der beiden Reste  $R^1$  bzw.  $R^2$  ein Wasserstoffatom, die Benzoyl-, Phenylacetyl-, Phenylpropionyl-, Phenylbutyryl-, Phenylvaleroyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-benzoyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylacetyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylpropionyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylbutyryl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylvaleroyl-, 3,4,5-Trihydroxybenzoyl-, 3-Phenylacryloyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-3-phenylacryloyl- oder 3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-acryloyl-Gruppe bedeutet.

Bevorzugte Salicylalkoholderivate der allgemeinen Formel (I) sind solche, in denen  $n = 1$  ist und  $R^1$  Wasserstoff bedeutet.

Für den Rest Z in der allgemeinen Formel (I) kommen beispielsweise Threose, Erythrose, Arabinose, Lyxose, Ribose, Xylose, Allose, Altrose, Galactose, Glucose, Gulose, Idose, Mannose, Talose, Fructose, wobei die natürlich vorkommenden Stereoisomere der Zucker bevorzugt sind, sowie die aus diesen zusammengesetzten Di-, Oligo- und Polysaccharide in Betracht.

Bevorzugte Salicylalkoholderivate der allgemeinen Formel (I) sind solche, in denen Z für D-Glucose steht.

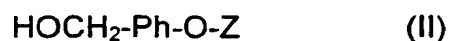
Zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen können beispielsweise grundsätzlich alle in der Literatur beschriebenen Verfahren zur Herstellung von Carbonsäureestern eingesetzt werden (vgl. C. Ferri, Reaktionen der organischen Synthese, Thieme-Verlag, Stuttgart 1978), vorzugsweise jedoch Veresterungen, Umesesterungen sowie Acylierungen mit aktivierten Carbonsäurederivaten.

- 6 -

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist demnach ein Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen (I), das dadurch gekennzeichnet ist, daß eine alkoholische Komponente mit einer Carbonsäure, einem Carbonsäureester oder einem aktivierten Carbonsäurederivat in Gegenwart geeigneter Katalysatoren verestert oder umgeestert wird.

Unter einem aktivierten Carbonsäurederivat ist beispielsweise ein Carbonsäurechlorid oder Carbonsäureanhydrid zu verstehen, welches unter Schotten-Baumann-Bedingungen mit einer Alkoholkomponente zu einem Ester umgesetzt werden kann.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen kann beispielsweise erfolgen durch Veresterung eines Alkohols der Struktur



mit einer Carbonsäure  $\text{R}^3\text{COOH}$  und/oder  $\text{R}^4\text{COOH}$ , wobei im Falle der Veresterung mit beiden Carbonsäuren die Veresterung in einem Schritt oder auch in zwei aufeinanderfolgenden Schritten erfolgen kann, und wobei Ph, Z,  $\text{R}^3$  und  $\text{R}^4$  die Bedeutungen haben wie vorstehend für Formel (I) beschrieben.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen kann weiterhin erfolgen durch Umesterung eines Alkohols der Struktur (II) mit Carbonsäureestern  $\text{R}^3\text{COOR}^5$  und/oder  $\text{R}^4\text{COOR}^5$ , wobei  $\text{R}^5$  eine Alkylgruppe mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen bedeutet und wobei im Falle der Umesterung mit beiden Carbonsäureestern die Umesterung in einem Schritt oder auch in zwei aufeinanderfolgenden Schritten erfolgen kann, und wobei Ph, Z,  $\text{R}^3$  und  $\text{R}^4$  die Bedeutungen haben wie vorstehend für Formel (I) beschrieben.

- 7 -

Bei der Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen nach den üblichen Methoden der chemischen Synthese kommt es wegen der Anwesenheit mehrerer frei vorliegender Hydroxylgruppen in der alkoholischen Komponente (II) oder einem Partialester hiervon in der Regel zur Bildung von Gemischen aus einfach und mehrfach substituierten Produkten, so daß die Einführung und Entfernung von Schutzgruppen notwendig ist, wenn man gezielt eine bestimmte Verbindung synthetisieren will.

Durch den Einsatz aktivierter Carbonsäurederivate entstehen Beiprodukte und häufig auch unerwünschte Nebenprodukte, welche die Aufarbeitung erschweren, die Ausbeuten an gewünschtem Produkt vermindern und die Umwelt belasten. Diese Nachteile können vermieden oder zumindest vermindert werden, indem die Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen auf enzymatischem Weg (z. B. in Anlehnung in das in der deutschen Anmeldung DE 197 53 789.8 beschriebene Verfahren) oder durch Biotransformationen mit Pflanzenzellkulturen erfolgt (M. Ushiyama, S. Kumagai und T. Furuya, *Phytochemistry* 28, 3335 (1989)).

Gegenstand der Erfindung ist demnach weiterhin ein Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen (I), das dadurch gekennzeichnet ist, daß eine alkoholische Komponente mit einer Carbonsäure oder einem Carbonsäureester mit einem oder mehreren Enzymen als Katalysatoren verestert oder umgeestert wird.

Geeignete enzymatische Verfahren zur Veresterung oder Umesterung sind beispielsweise beschrieben in K. Drauz und H. Waldmann, *Enzyme Catalysis in Organic Synthesis*, VCH-Verlag, Weinheim 1975.

Die erfindungsgemäßen Salicylalkoholderivate weisen wertvolle biologische Aktivitäten auf, wie z. B. antiinflammatorische, antipyretische, antiphlogistische oder analgetische Wirkungen. So läßt sich beispielsweise gegenüber literaturbekannten Verbindungen wie dem Salicin mit den erfindungsgemäßen Verbindungen eine stärkere Inhibition der Prostaglandinsynthese erzielen, was mit der höheren Lipophilie dieser Verbindungen in Zusammenhang gebracht wird. Voraussetzung für die

- 8 -

bessere Wirkung ist u.a. eine effiziente Absorption durch die Zellmembranen der Keratinocyten. Die Lipidlöslichkeit glykosidischer Verbindungen ergibt sich aus dem Verhältnis von hydrophilem und hydrophobem Anteil, das durch den HLB-Wert beschrieben wird. Salicin ist mit einem HLB-Wert von ca. 12 eher als ein wasserlösliches, Salicinester mit Werten von teilweise deutlich unter 10 sind dagegen eher als fettlösliche Moleküle einzuordnen. Dadurch wird der Transport über die Zellmembranen gegenüber Salicin deutlich verbessert, und gegenüber herkömmlichen Wirkstoffen, die in der Regel erst bei subkutaner Applikation eine ausreichende Wirkung entfalten, eine kutane Applikation erleichtert bzw. erst ermöglicht.

Der Carbonsäureteil der erfindungsgemäßen Salicylalkoholderivate kann von einer Carbonsäure  $R^3\text{COOH}$  und/oder  $R^4\text{COOH}$  gebildet werden, die selbst eine intrinsische biologische Aktivität aufweist, wie z. B. der als fungistatisch bekannten Sorbinsäure. Auf diese Weise sind Salicylalkoholderivate erhältlich, die neben einer antiinflammatorischen, antipyretischen, antiphlogistischen und analgetischen Wirkung überdies weitere biologische Wirkungen aufweisen, wie z. B. antioxidative, hautaufhellende, antibakterielle, antivirale bzw. fungistatische Effekte.

Darüber hinaus sind die erfindungsgemäßen Verbindungen besonders gut in lipophile Basisrezepturen einarbeitbar und lassen sich auf einfache Weise als stabile Emulsionen formulieren.

Erfindungsgemäß werden die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) zur Herstellung von kosmetischen und/oder pharmazeutischen Zubereitungen verwendet.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind somit kosmetische und/oder pharmazeutische Zubereitungen mit einem Gehalt an den erfindungsgemäßen Salicylalkoholderivaten (I).

Die unter erfindungsgemäßer Verwendung der Verbindungen (I) erhältlichen kosmetischen Zubereitungen, wie beispielsweise Haarshampoos, Haarlotionen,

- 9 -

Schaumbäder, Duschbäder, Cremes, Gele, Lotionen, alkoholische und wässrig/alkoholische Lösungen, Emulsionen, Wachs/Fett-Massen, Stiftpräparate, Puder oder Salben, können ferner als weitere Hilfs- und Zusatzstoffe milde Tenside, Ölkörper, Emulgatoren, Überfettungsmittel, Perlglanzwachse, Konsistenzgeber, Verdickungsmittel, Polymere, Siliconverbindungen, Fette, Wachse, Stabilisatoren, biogene Wirkstoffe, Deowirkstoffe, Antischuppenmittel, Filmbildner, Quellmittel, UV-Lichtschutzfaktoren, Antioxidantien, Hydrotrope, Konservierungsmittel, Insektenrepellentien, Selbstbräuner, Solubilisatoren, Parfümöle, Farbstoffe, keimhemmende Mittel und dergleichen enthalten.

Die Einsatzmenge der erfindungsgemäßen Verbindungen in kosmetischen Zubereitungen liegt üblicherweise im Bereich von 0,01 bis 5 Gew.-%, vorzugsweise jedoch von 0,1 bis 1 Gew.-%, bezogen auf die Zubereitungen.

Zur Herstellung pharmazeutischer oder auch kosmetischer Zubereitungen lassen sich die erfindungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel (I), gegebenenfalls in Kombination mit anderen Wirksubstanzen, zusammen mit einem oder mehreren inerten üblichen Trägerstoffen und/oder Verdünnungsmitteln, z. B. mit Maisstärke, Milchzucker, Rohrzucker, mikrokristalliner Cellulose, Magnesiumstearat, Polyvinylpyrrolidon, Zitronensäure, Weinsäure, Wasser, Wasser / Ethanol, Wasser / Glycerin, Wasser / Sorbit, Wasser / Polyethylenglykol, Propylenglykol, Carboxymethylcellulose oder fetthaltigen Substanzen wie Hartfett oder deren geeigneten Gemischen, in übliche galenische Zubereitungen wie Tabletten, Dragees, Kapseln, Pulver, Suspensionen, Tropfen, Ampullen, Säfte oder Zäpfchen einarbeiten.

Die zur Erzielung einer entsprechenden Wirkung bei pharmazeutischen Anwendungen erforderliche tägliche Dosierung beträgt zweckmäßigerweise 0,1 bis 10 mg / kg Körpergewicht, vorzugsweise 0,5 bis 2 mg / kg Körpergewicht.

- 10 -

**Beispiel****Beispiel 1: 6-O-Phenylpropionyl-[2-(Hydroxymethyl)phenyl]- $\beta$ -D-glucopyranosid**

5 mmol D-(-)-Salicin [2-(Hydroxymethyl)phenyl- $\beta$ -D-glucopyranosid], 7.5 mmol Phenylpropionsäure, 4 g Molekularsieb, 4 ml t-Butanol und 2.5 g immobilisierte Lipase B aus *Candida antarctica* wurden 34 Stunden bei 60 °C im rotierenden 50 ml Rundkolben inkubiert. Die Umsetzung wurde mittels Dünnschichtchromatographie (Kieselgel 60-Platten mit Fluoreszenzindikator; Laufmittel: Chloroform/Methanol/Wasser 65/15/2 v/v/v; Visualisierung: UV-Detektion sowie mittels Essigsäure/Schwefelsäure/Anisaldehyd (100:2:1 v/v/v)- Tauchreagenz) nachgewiesen. Das Produkt wurde mit 20 ml Dichlormethan extrahiert und über Säulenchromatographie (Kieselgel F60; Laufmittel: Ethylacetat/Methanol 10/1 v/v) gereinigt. Nach Reinigung betrug die Ausbeute 32 % (weißer Feststoff).

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta(\text{ppm}) = 30.9$  (C-2), 38.7 (C-3), 61.6 (C-7\*), 65.2 (C-6'), 72.2 (C-4'), 75.6 (C-2'), 76.1 (C-5'), 78.4 (C-3'), 103.7 (C-1'), 117.6 (C-6\*), 124.5 (C-4\*), 127.6 (C-7), 130.1 – 131.0 (C-3\*, C-5\*, C-5, C-6, C-8, C-9), 132.8 (C-2\*), 143.4 (C-4), 157.5 (C-1\*), 175.2 (C'=O).

**Beispiel 2: 6-O-p-OH-Phenylacetyl-([2-(hydroxymethyl)phenyl]- $\beta$ -D-glucopyranosid:**

5 mmol D-(-)-Salicin [2-(Hydroxymethyl)phenyl- $\beta$ -D-glucopyranosid], 7.5 mmol p-OH-Phenylelessigsäure, 4 g Molekularsieb, 4 ml t-Butanol und 2.5 g immobilisierte Lipase B aus *Candida antarctica* wurden 34 Stunden bei 60 °C im rotierenden 50 ml Rundkolben inkubiert. Die Umsetzung wurde mittels Dünnschichtchromatographie (Kieselgel 60-Platten mit Fluoreszenzindikator; Laufmittel: Chloroform/Methanol/Wasser 65/15/2 v/v/v; Visualisierung: UV-Detektion sowie mittels Essigsäure/Schwefelsäure/Anisaldehyd (100:2:1 v/v/v)- Tauchreagenz) nachgewiesen. Das Produkt wurde mit 20 ml Dichlormethan extrahiert und über Säulenchromatographie (Kieselgel F60; Laufmittel: Ethylacetat/Methanol 10/1 v/v) gereinigt. Nach Reinigung betrug die Ausbeute 17 % (weißer Feststoff).

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  (ppm) = 41.8 (C-2), 61.0 (C-7\*), 65.0 (C-6'), 71.5 (C-4'), 74.9 (C-2'), 75.4 (C-5'), 77.8 (C-3'), 103.2 (C-1'), 117.1 (C-6\*), 123.9 (C-4\*), 129.4 – 132.3



- 11 -

(C-2\*, C-3\*, C-5\*; C-4, C-5, C-7, C-8), 136.1 (C-3), 156.0 – 159.2 (C-1\*, C-6), 173.31 (C=O).

In analoger Weise wie in Beispiel 1 wurden erhalten:

Beispiel 3: p-Chloro-Phenylacetoyl-([2-(hydroxymethyl)phenyl]-β-D-glucopyranosid

<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD): δ (ppm) = 41.2 (C-2), 61.0 (C-7\*), 65.1 (C-6'), 71.4 (C-4'), 74.9 (C-2'), 75.2 (C-5'), 77.8 (C-3'), 103.1 (C-1'), 117.7 (C-6\*), 123.9 (C-4\*), 129.5 – 132.0 (C-3 – C-5, C-7, C-8, C-2\*, C-3\*, C-5\*), 134.2 (C-6), 156.2 (C-1\*), 173.0 (C'=O).

Beispiel 4: 6-O-Cinnamoyl-([2-(hydroxymethyl)phenyl]-β-D-glucopyranosid

<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD): δ (ppm) = 61.0 (C-7\*), 64.9 (C-6'), 71.8 (C-4'), 74.9 (C-2'), 75.4 (C-5'), 77.9 (C-3'), 103.7 (C-1'), 117.1 (C-6\*), 118.6 (C-2), 123.8 (C-4\*), 129.1 – 131.6 (C-5 bis C-9, C-2\*, C-3\*, C-5\*), 135.6 (C-4), 146.5 (C-3), 156.2 (C-1\*), 168.3 (C'=O).

Beispiel 5: 6-O-Oleoyl-([2-(hydroxymethyl)phenyl]-β-D-glucopyranosid

<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>OD): δ (ppm) = 14.4 (C-18), 23.6 (C-17), 23.7 – 35.1 (C-11 bis C-16, C-2 bis C-8), 60.9 (C-7\*), 64.7 (C-6'), 71.7 (C-4'), 74.9 (C-2'), 75.3 (C-5'), 77.8 (C-3'), 103.6 (C-1'), 117.1 (C-6\*), 123.1 (C-4\*), 129.0 – 132.8 (C-9, C-10, C-2\*, C-3\*, C-5\*), 156.2 (C-1\*), 175.5 (C'=O).

Beispiel 6: 6-O-Palmitoyl-([2-(hydroxymethyl)phenyl]-β-D-glucopyranosid

5 mmol D-(-)-Salicin [2-(Hydroxymethyl)phenyl-β-D-glucopyranosid] und 5 mmol Palmitinsäuremethylester in 50 ml Aceton wurden in einem 2-Halskolben mit aufgesetztem Soxhlet-Extraktor (der mit aktiviertem Molekularsieb befüllt war) mit 0,5 mg immobilisierter *Candida antarctica* B Lipase (SP 435, Hersteller Novo Nordisk) versetzt und unter Rühren (Magnetrührer, 200 UpM) und reduziertem Druck 48 h auf 40 °C erhitzt. Der Reaktionsfortgang wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach Reaktionsende wurden 14 g warmen (ca. 50 °C) Acetons zugegeben und das

- 12 -

Gemisch wurde bei 50 °C filtriert. Das Filtrat wurde auf -10 °C abgekühlt und das dabei ausfallende Produkt wurde durch Filtration in einer Ausbeute von 53 % isoliert.

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  (ppm) = 14,47 (C-16), 23,74 (C-15), 26,00 (C-3), 30,22 - 30,80 (C-4 - C-13), 33,08 (C-14), 35,03 (C-2), 60,98 (C-7\*), 64,59 (C-6'), 71,64 (C-4'), 74,96 (C-2'), 75,49 (C-5'), 77,82 (C-3'), 103,22 (C-1'), 117,07 (C-6\*), 123,82 (C-4\*), 129,78 - 132,34 (C-2\*, C-3\*, C-5\*), 156,98 (C-1\*), 175,23 (C=O). Anal. berechnet für  $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}_8$  (524,69): C, 66,39; H, 9,22. Gefunden: C, 67,88; H, 9,41.

Beispiele 7 bis 9: Herstellung weiterer Salicin-Ester durch Umesterung:

In Analogie zu dem in Beispiel 6 beschriebenen Verfahren wurde Salicin ([2-(Hydroxymethyl)phenyl]- $\beta$ -D-glucopyranosid) mit verschiedenen Carbonsäuremethylestern umgesetzt und die in der nachfolgenden Tabelle angegebenen selektiv an der primären Alkoholfunktion der Glucoseeinheit veresterten Salicine erhalten.

Verbindung	Reaktionstemperatur	Reaktionszeit	Ausbeute
Salicinstearat (Beispiel 7)	40 °C	24 h	67 %
Salicinmyristat (Beispiel 8)	35 °C	48 h	29 %
Salicinphenylacetat (Beispiel 9)	35 °C	48 h	32 %

Die so hergestellten Salicin-Ester wurden NMR-spektroskopisch charakterisiert; das Spektrum von Beispiel 9 ist beispielhaft angegeben:

6-O-Phenylacetyl-([2-(hydroxymethyl)phenyl]- $\beta$ -D-glucopyranosid (Beispiel 9)

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  (ppm) = 41,82 (C-2), 60,99 (C-7\*), 65,03 (C-6'), 71,52 (C-4'), 74,94 (C-2'), 75,49 (C-5'), 77,77 (C-3'), 103,21 (C-1'), 117,11 (C-6\*), 123,91 (C-4\*), 127,89 (C-6), 129,46 - 132,37 (C-2\*, C-3\*, C-5\*; C-4, C-5, C-7, C-8), 136,12 (C-3), 156,95 (C-1\*), 173,31 (C=O). Anal. berechnet für  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_8$  (404,41): C, 62,38; H, 5,98. gefunden: C, 63,96; H, 5,90.

Beispiel 10: Cytotoxizität (in Maus- oder humanen Haut-Keratinocyten, MSCP 5 bzw. HPK II)

Die Toxizität der vorliegenden Substanzen wurde mittels MTT-Test (Mosmann 1983) in Zellkulturen untersucht. Dieser Test basiert auf der Umwandlung des gelben Tetrazoliums Salzes MTT in den violetten Farbstoff Formazan. Die Reaktion findet nur in lebenden Zellen durch die in der inneren Mitochondrienmembran lokalisierte Succinat-Dehydrogenase statt. Wegen des möglichen Einsatzes in Kosmetik- oder Pharmaprodukten wurden Hautzellen (menschliche HPKII- bzw. Maus MSCP5- Keratinocyten) als Testsystem benutzt. Die getesteten Substanzen (Phenylpropionyl-Salicin und p-OH-Phenylacetyl-Salicin) waren in Konzentrationen, bei denen sie biologische Wirksamkeit zeigten (Hemmung der Prostaglandinsynthese), für die Zellen nicht toxisch. Der Effekt der Substanzen auf die Keratinocyten war unabhängig von der Zeit (1.5 oder 20 h Inkubationszeit), des Wachstumszustandes (konfluent oder subkonfluent) und des Organismus (Maus oder Mensch).

Abbildung 1 zeigt, daß der Einfluß von Phenylpropionyl-Salicin (untere, durchgezogene Kurve) und p-OH-Phenylacetyl-Salicin (obere, punktierte Kurve) auf die Vitalität von Hautzellen (Keratinocyten) sehr gering war. Die Substanzen wurden im Kulturmedium gelöst und 20 h mit den Zellen inkubiert. Der MTT-Reduktionstest wurde anschließend mit frischem Medium ohne Testkomponenten durchgeführt.

Beispiel 11: Hemmung der Prostaglandinsynthese durch Salicinderivate (in Maus oder humanen Haut-Keratinocyten, MSCP 5 bzw. HPK II)

Abbildung 2 zeigt die inhibitorischen Effekte von Salicin und Salicinestern auf die Prostaglandinfreisetzung in Keratinocyten. Die Zellen wurden mit 0.2  $\mu\text{Ci}$   $^{14}\text{C}$ -Arachidonsäure  $\text{mL}^{-1}$  Medium für 16 Stunden markiert. Die Testsubstanzen wurden in frischem Medium mit ansteigender Konzentration zugegeben und 2 Stunden inkubiert. In der Abbildung bedeuten die Substanzen:

- 1 = Negativkontrolle,
- 2 = Salicin,
- 3 = Phenylpropionyl-Salicin,
- 4 = p-OH-Phenylacetyl-Salicin,
- 5 = Positivkontrolle

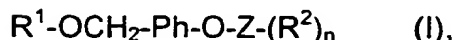
In der Positivkontrolle NS398 (10  $\mu\text{M}$ ) bei MSCP5 Zellen ist die Prostaglandinsynthese um 85 % reduziert. Die Prostaglandine wurden im Vergleich zu Referenzsubstanzen identifiziert und radiodensitometrisch quantifiziert. Angegeben ist jeweils der Mittelwert aus drei Meßpunkten. MSCP 5: 100 % = 201 cpm; HPK II: 100 % = 63 cpm.

Beispiel 12: Beeinflussung der Transkriptionsaktivität von HPK II ( humane Haut-Keratinocyten)

Die Prostaglandinfreisetzung kann auf mehreren Ebenen durch Inhibitoren beeinflusst werden. Neben der Inhibierung der katalytischen Aktivität der Prostaglandin-Synthase-Proteine ist ein Effekt bereits auf die messenger RNA der Cyclooxygenasen denkbar. In *Northern Blot*-Analysen zeigte sich, daß bei Inkubation von subkonfluenten MSCP 5 Zellen mit 500  $\mu\text{M}$  p-OH-Phenylacetoyl-Salicin für 45 Minuten die COX-2-mRNA-*steady state*-Konzentration im Vergleich zu unbehandelten Zellen stark verringert ist. Als Negativkontrolle wurden bei identischer auf-

- 15 -

getragener RNA-Konzentration die Zellen in Medium ohne Testsubstanz nur mit dem Lösungsvermittler Aceton (0.25% v/v) 45 Minuten inkubiert.

**Patentansprüche****1. Salicylalkoholderivate der allgemeinen Formel (I)**

worin

$R^1$  für ein Wasserstoffatom oder einen Rest  $C(O)R^3$  steht,

wobei  $R^3$  einen Alkyl-, Cycloalkyl-, Cycloalkylalkyl-, Aralkyl-, oder Arylrest mit 1 bis 26 C-Atomen und/oder 1-10 Heteroatomen, der unverzweigt oder verzweigt, einfach oder mehrfach ungesättigt sein und/oder Substituenten am Kohlenstoffgerüst und/oder den Heteroatomen tragen kann, bedeutet,

Ph steht für den 1,2-Phenylrest,

Z einen an den aromatischen Rest Ph in (I) halbacetalisch gebundenen, gegebenenfalls n-fach mit  $R^2$  esterartig substituierten Zucker darstellt, wobei der Zucker ein Mono-, Di-, Oligo- oder Polysaccharid sein kann,

n eine ganze Zahl zwischen 0 und m ist, wobei m gleich der Anzahl der im halbacetalisch an den aromatischen Rest gebundenen Zucker Z vorhandenen freien Hydroxygruppen ist,

$R^2$  für ein Wasserstoffatom oder eine Gruppe  $C(O)R^4$  steht, wobei  $R^4$  aus der gleichen Gruppe ausgewählt ist wie  $R^3$ , und wobei  $R^1$  und  $R^2$  gleich oder verschieden sein können mit der Maßgabe, daß höchstens einer der beiden Reste  $R^1$  oder  $R^2$  Wasserstoff bedeutet, wenn  $Z = \text{Glucose}$  ist,

und mit den Einschränkungen,

daß im Falle, daß Z Glucose und  $R^2$  Wasserstoff bedeuten, der Rest  $R^1$  weder Acetyl noch Benzoyl noch (1-Hydroxy-6-oxo-2-cyclohexen-1-yl)carbonyl bedeuten kann,

und im Falle, daß  $R^1$  Wasserstoff, Z Glucose und  $n = 1$  bedeuten und der Glucoserest an seiner primären Hydroxygruppe mit  $R^2$  substituiert ist, der Rest  $R^2$  nicht 4-Phenyl-butyryl bedeuten kann.

- 17 -

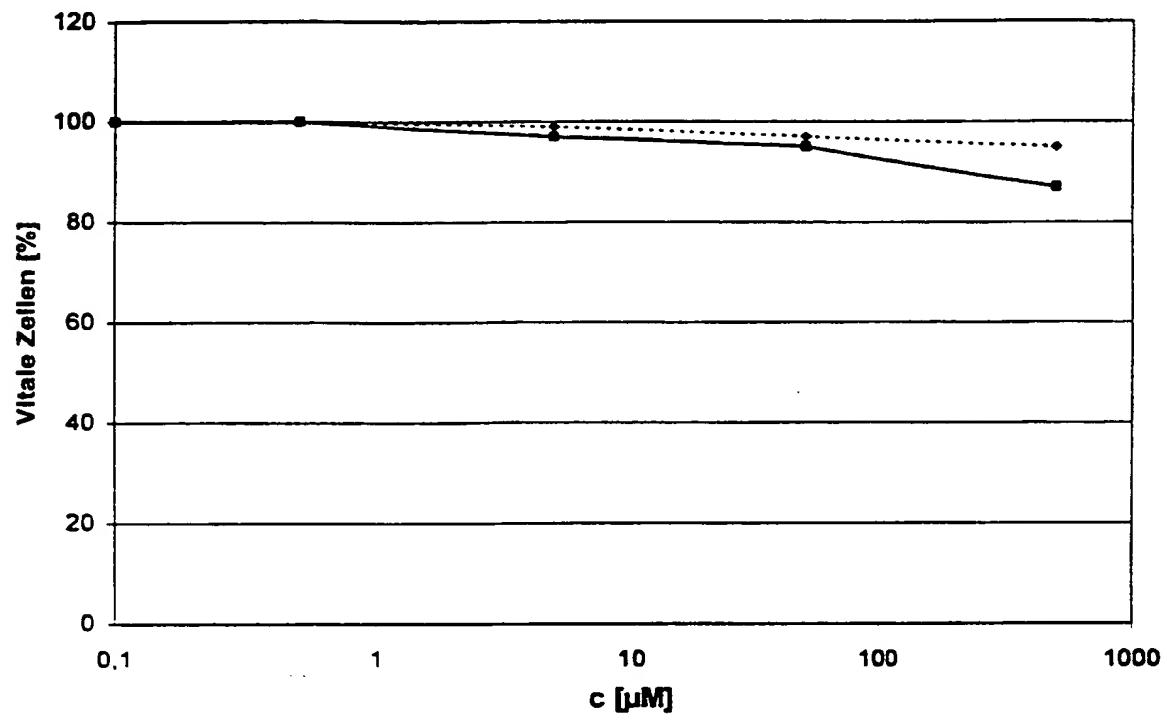
2. Salicylalkoholderivate nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens einer der beiden Reste  $R^1$  bzw.  $R^2$  ein Wasserstoffatom, die Benzoyl-, Phenylacetyl-, Phenylpropionyl-, Phenylbutyryl-, Phenylvaleroyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-benzoyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylacetyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylpropionyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylbutyryl-, o-, m- oder p-Hydroxy-phenylvaleroyl-, 3,4,5-Trihydroxybenzoyl-, 3-Phenylacryloyl-, o-, m- oder p-Hydroxy-3-phenylacryloyl- oder 3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-acryloyl-Gruppe bedeutet.
3. Salicylalkoholderivate nach mindestens einem der Ansprüche 1 und/oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß  $n = 1$  ist und  $R^1$  Wasserstoff bedeutet.
4. Salicylalkoholderivate nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß Z ein Monosaccharid bedeutet ausgewählt aus Threose, Erythrose, Arabinose, Lyxose, Ribose, Xylose, Allose, Altrose, Galactose, Glucose, Gulose, Idose, Mannose, Talose und Fructose, wobei die natürlich vorkommenden Stereoisomere der Zucker bevorzugt sind.
5. Salicylalkoholderivate nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß Z für D-Glucose steht.
6. Salicylalkoholderivate nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß für den Fall, daß  $R^1$  Wasserstoff, Z Glucose und  $n = 1$  bedeuten und die Glucose an ihrer primären Hydroxygruppe mit  $R^2 = C(O)R^4$  substituiert ist,  $R^4COOH$  keine hydrophobe aromatische Carbonsäure bedeutet.
7. Verfahren zur Herstellung der Verbindungen nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß eine alkoholische Komponente mit einer Carbonsäure, einem Carbonsäureester oder einem aktivierten Carbonsäurederivat in Gegenwart geeigneter Katalysatoren verestert oder umgeestert wird.

- 18 -

8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Herstellung durch eine enzymatisch katalysierte Veresterung oder Umesterung erfolgt.
9. Verwendung der Verbindungen nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von kosmetischen und/oder pharmazeutischen Zubereitungen.
10. Kosmetische Zubereitungen, dadurch gekennzeichnet, daß sie Salicylalkoholderivate nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 6 enthalten.
11. Pharmazeutische Zubereitungen, dadurch gekennzeichnet, daß sie Salicylalkoholderivate nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 6 enthalten.



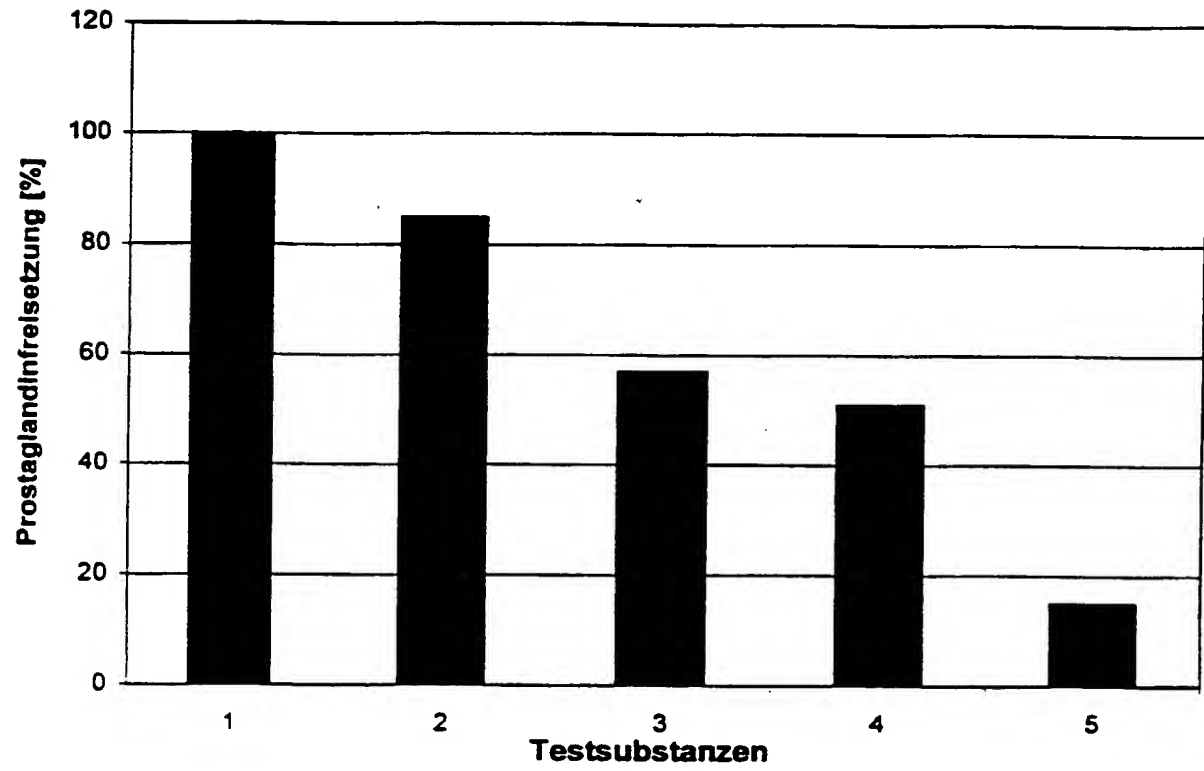
Fig. 1



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

2/2

Fig. 2



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP 00/03758

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
IPC 7 C07H15/04 C12P19/02 A61K7/00 A61K31/7034

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 C07H C12P A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	S. RIVA ET AL.: "Protease-catalyzed regioselective esterification of sugars and related compounds in anhydrous dimethylformamide" J. AM. CHEM. SOC., vol. 110, 1988, pages 584-589, XP002144262 Page 586, Compound 6	1-8
X	PEARL, IRWIN A. ET AL: "The barks of the family Salicaceae. XV. The leaves of the family Salicaceae. 10. Mass spectrometry as an aid for determining structures of natural glucosides" PHYTOCHEMISTRY (1968), 7(5), 831-7, XP000925608 page 832	1-5
	— — — — — — / —	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

4 August 2000

Date of mailing of the international search report

28/08/2000

Name and mailing address of the ISA  
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

de Nooy, A

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter:      nal Application No

PCT/EP 00/03758

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ESTES, TIMOTHY K. ET AL: "Barks of the family Salicaceae. XIII. Hot-water extractives of the gree bark of Populus trichocarpa" TAPPI (1967), 50(7), 318-24 , XP000929293 Structure Page      319	1-5
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 127, no. 11, 15 September 1997 (1997-09-15) Columbus, Ohio, US; abstract no. 147088, ITOH, ATSUKO ET AL: "Two new phenolic glycosides from Alangium chinense" XP002144263 abstract 6'-O-trans-caffeoylsalicin & NAT. MED. (TOKYO) (1997), 51(2), 173-175	1-5
X	OTTO R T ET AL: "Lipase-catalyzed synthesis of arylaliphatic esters of beta-d(+)-glucose, n-alkyl- and arylglucosides and characterization of their surfactant properties" JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY,NL,ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, vol. 64, no. 2-3, 8 October 1998 (1998-10-08), pages 231-237, XP004144022 ISSN: 0168-1656 cited in the application Page 234, Compound      19 page 231, left-hand column	1-11
A	DE 34 09 275 A (KRIWET MANFRED) 26 September 1985 (1985-09-26) column 15 -column 16	9,10
A	US 5 876 737 A (STECKEL FRIEDHELM ET AL) 2 March 1999 (1999-03-02) Page 11, Example      1	9,11
P,X	R. T. OTTO ET AL.: "Substrate specificity of lipase B from Candida antartica in the synthesis of arylaliphatic glycolipids" JOURNAL OF MOLECULAR CATALYSIS B: ENZYMATIC, vol. 8, 2000, pages 201-211, XP000929711 abstract Pages 204-205,      Compounds      20-25	1-11

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/03758

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
DE 3409275	A	26-09-1985	WO	8504102 A	26-09-1985
			EP	0175722 A	02-04-1986
			JP	61501450 T	17-07-1986
US 5876737	A	02-03-1999	DE	19615577 A	23-10-1997
			EP	0801946 A	22-10-1997
			JP	10036238 A	10-02-1998

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**